

ISBN 978-979-3558-23-3

**PROSIDING SEMINAR ILMIAH HASIL
PENELITIAN TAHUN 2009**

APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI

Jakarta, 02 Desember 2010



**BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL
PUSAT APLIKASI TEKNOLOGI ISOTOP DAN RADIASI
JAKARTA 2011**

- ISBN 978-979-3558-23-3
- Penyunting :
1. Prof. Dr. Ir. Mugiono - PATIR-BATAN
 2. Prof. Ir. Sugiarto - PATIR-BATAN
 3. Prof. Ir. A. Nasroh Kuswadi, M.Sc - PATIR-BATAN
 4. Dra. Rahayuningsih Chosdu, MM - PATIR-BATAN
 5. Dr. Paston Sidauruk - PATIR-BATAN
 6. Dr. Hendig Winarno, M.Sc. - PATIR-BATAN
 7. Dr. Ir. Sobrizal - PATIR-BATAN
 8. Ir. Suharyono, M.Rur.Sci - PATIR-BATAN
 9. Prof. Dr. Ir. Abd. Latief Toleng - UNHAS
 10. Dr. Nelly Dhevita Leswara - UI

APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI
Jakarta, 02 Desember 2010

SEMINAR ILMIAH HASIL PENELITIAN APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI (2009 : JAKARTA), Prosiding seminar ilmiah hasil penelitian aplikasi isotop dan radiasi, Jakarta, 2 Desember 2010 / Penyunting, Mugiono ... (*et al.*) -- Jakarta : Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, 2011.

i, 451 hal.; ill.; tab.; 30 cm

ISBN 978-979-3558-23-3

I. Isotop - Seminar I. Judul II. Badan Tenaga Nuklir Nasional III. Mugiono

541.388

Alamat : Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49
Kotak Pos 7002 JKSKL
Jakarta 12440
Telp. : 021-7690709
Fax. : 021-7691607
021-7513270
E-mail : patir@batan.go.id
sroji@batan.go.id
Home page : <http://www.batan.go.id/patir>

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa dimana atas berkat dan rahmat Nyalah maka Prosiding Seminar Ilmiah Hasil Penelitian Aplikasi Isotop dan Radiasi tahun 2009 Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini perkenankanlah kami menginformasikan kepada masyarakat tentang hasil kegiatan penelitian PATIR-BATAN berupa buku "Prosiding Seminar Ilmiah Hasil Penelitian Aplikasi Isotop dan Radiasi, tahun 2009", Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tanaga Nuklir Nasional (2011).

Penyusun menyampaikan permintaan maaf apabila pada penerbitan ini, masih banyak hal yang kurang sempurna, untuk itu kami sangat mengharapkan saran perbaikan. Tidak lupa pula penyusun juga menyampaikan terima kasih kepada para penulis dan semua pihak yang telah membantu dalam persiapan maupun pelaksanaan penerbitan buku Prosiding tersebut.

Jakarta, 7 Februari 2011

Penyusun,

DAFTAR ISI

Pengantar.....	i
Daftar Isi	iii
Bidang Pertanian	
Pemuliaan tanaman padi untuk mendapatkan varietas unggul nasional dan hibrida; observasi dan uji daya hasil pendahuluan galur mutan asal iradiasi ki 237 dan ki 432 SOBRIZAL, CARKUM, NANA SUPRIATNA, YULIDAR, WINDA PUSPITASARI.....	1
Uji daya hasil dan respon terhadap serangan jamur <i>aspergillus flavus</i> pada galur mutan kacang tanah PARNO DAN SIHONO	7
Uji adaptasi, uji ketahanan terhadap penyakit dan hama penting serta analisis nutrisi galur-galur mutan harapan kedelai umur sedang dan genjah berukuran biji besar HARRY IS MULYANA, ARWIN, TARMIZI DAN MASRIZAL	13
Pemurnian dan pendeskripsian sifat agronomi mutan padi rendah kandungan asam fitat ARWIN, AZRI KUSUMA DEWI, YULIDAR DAN WINDA PUSPITASARI.....	29
Perbaikan genetik tanaman kacang hijau toleran cekaman abiotik (kekeringan) dan biotik melalui teknik mutasi dan bioteknologi YULIASTI, SIHONO DAN SISWOYO	37
Pembentukan populasi dasar padi hitam dengan teknik mutasi SHERLY RAHAYU, MUGIONO, HAMBALI, DAN YULIDAR	45
Peningkatan keragaman genetik bawang merah (<i>allium ascalonicum</i> l.) melalui pemuliaan mutasi ISMİYATI SUTARTO DAN MARINA YUNIAWATI	53
Perbaikan sifat tanaman obat <i>artemisia cina</i> dengan sinar gamma ARYANTI, ULFA TAMIN DAN MARINA YUNIAWATI	61
Observasi galur mutan tanaman jarak pagar (<i>jatropha curcas</i> l.) generasi m1v5 pada tahun ketiga ITA DWIMAHYANI , SASANTI WIDIARSIH, WINDA PUSPITASARI DAN YULIDAR	67

Observasi, seleksi dan uji daya hasil lanjut galur mutan tanaman kapas (<i>Gossypium hirsutum</i> .L) dengan teknik mutasi LILIK HARSANTI, ITA DWIMAHYANI, TARMIZI, SISWOYO DAN HAMDANI	75
Perbaikan varietas padi sawah dengan teknik mutasi MUGIONO, SHERLY RAHAYU, HAMALI, YULIDAR	85
Pengujian ketahanan galur-galur mutan sorgum terhadap lahan masam SOERANTO HUMAN, SIHONO, PARNO DAN TARMIZI.....	93
Perbaikan varietas padi lokal dan padi gogodengan teknik pemuliaan mutasi : uji daya hasil, serta seleksi galur mutan padi lokal dan padi gogo AZRI KUSUMA DEWI, MUGIONO, HAMBALI, YULIDAR DAN SUTISNA.....	103
Optimalisasi pemupukan padi sawah hasil litbang batan dengan teknik nuklir HARYANTO	115
Budidaya padi sawah dengan sistem sri dan bahan organik pupuk kandang SETIYO HADI WALUYO	125
Produksi Azofert (Reformulasi Azora) ANIA CITRARESMINI, SRI HARTI S., HALIMAH, ANASTASIA D.....	135
Penghematan pupuk dalam sistem pergiliran tanaman di lahan kering/ tadah hujan IDAWATI DAN HARYANTO.....	143
Uji terap dan uji toksisitas formulasi penglepasan terkendali (fpt) insektisida dimehipo terhadap serangga yang diinokulasikan pada tanaman padi SOFNIE M.CHAIRUL, HENDARSIH, DAN A.N. KUSWADI.....	153
Uji virulensi isolat <i>beauveria bassiana</i> (balsamo) vuill. (deuteromycotina: hyphomycetes) terhadap hama sayuran (lanjutan) MURNI INDARWATMI, A.N. KUSWADI, DAN INDAH A. NASUTION....	165
Perbaikan kualitas lalat buah <i>bactrocera carambolae</i> (drew & hancock) (diptera = tephritidae) mandul untuk pengendalian dengan teknik serangga mandul INDAH ARASTUTI NASUTION, MURNI INDARWATMI DAN A. NASROH KUSWADI.....	173
Uji kandungan nutrisi sorgum fermentasi untuk mengetahui kemampuannya sebagai pakan ruminansia secara <i>in vitro</i> LYDIA ANDINI, W. TEGUH S., DAN EDY IRAWAN K.....	181

Inovasi pakan komplit terhadap fermentasi rumen, pencernaan dan penambahan berat badan pada ternak domba SUHARYONO, C. E. KUSUMANINGRUM, T. WAHYONO DAN D. ANSORI.....	189
Budidaya ikan air tawar yang diberi pakan stimulan dengan pemanfaatan teknik nuklir. ADRIA PM.....	195
Daun <i>tithonia diversifolia</i> , sebagai penyusun pakan komplit ternak Ruminansia Secara <i>In-Vitro</i> FIRSONI.....	201
Respon imun <i>brucella abortus</i> untuk pengembangan vaksin iradiasi brucellosis BOKY JEANNE TUASIKAL, TRI HANDAYANI, TOTTI TJIPTOSUMIRAT.....	209
Uji lapang terbatas bahan vaksin fasciolosis untuk ternak ruminansia TRI HANDAYANI, BOKY JEANNE TUASIKAL, T. TJIPTOSUMIRAT.....	219
Bidang Proses Radiasi	
Uji coba produksi tulang xenograf radiasi untuk pemakaian periodontal BASRIL ABBAS.....	229
Sintesis dan kharakterisasi <i>injectable</i> komposit hidroksiapatit –pvp-kitosan dengan iradiasi berkas elektron sebagai graft tulang sintetik DARMAWAN DARWIS, LELY H., YESSY WARASTUTI DAN FARAH NURLIDAR.....	239
Sintesis iradiasi komposit tricalcium fosfat (tcp)- kitosan untuk graft tulang dan karakterisasi sifat fisiko-kimianya ERIZAL, A.SUDRAJAT, DEWI S.P.	245
Metode rt-pcr (<i>reverse transcription-polymerase chain reaction</i>) dan hibridisasi dot blot dengan pelacak berlabel ³² p untuk deteksi hcv (<i>hepatitis c virus</i>). LINA, M.R.....	253
Uji praklinis simplisia mahkota dewa (<i>phaleria macrocarpa</i> (scheff) boerl.) radiopasteurisasi sebagai antidiabetes pada tikus NIKHAM DAN RAHAYUNINGSIH CHOSDU.....	261

Pengaruh radiopasteurisasi pada simplisia kulit batang mahkota dewa (<i>phaleria macrocarpa (scheff) boerl.</i>) terhadap aktivitas anti kanker (lanjutan) ERMIN KATRIN, SUSANTO DAN HENDIG WINARNO	269
Pembuatan membran elektrolit dengan teknologi proses radiasi untuk direct methanol fuel cell (dmfc) AMBYAH SULIWARNO	279
Formulasi peningkat indeks viskositas minyak lumas sintetis MERI SUHARTINI, RAHMAWATI, I MADE SUMARTI KARDHA HER WINARNI, DEVI LISTINA P	287
Tinjauan membran serat berongga polisulfon untuk hemodialisis KRISNA LUMBAN RAJA, DEWI SEKAR P, NUNUNG, DAN OKTAVIANI	297
Degradasi lignoselulosa serbuk kayu menggunakan radiasi berkas elektron SUGIARTO DANU, DARSONO, MADE SUMARTI KARDHA, DAN MARSONGKO	313
Efektivitas khitosan iradiasi sebagai bahan pengawet makanan GATOT TRIMULYADI REKSO	321
Pengaruh ekstrak rendang iradiasi dosis tinggi terhadap kapasitas antioksidan, proliferasi limfosit dan hemolisis eritrosit manusia ZUBAIDAH IRAWATI ¹ , KAMALITA PERTIWI ² , DAN FRANSISKA RUNGKAT-ZAKARIA ²	329
Cemaran awal dan dekontaminasi bakteri patogen pada sayuran hidroponik dengan iradiasi gamma. HARSOJO.....	341
Aplikasi teknik radiasi dalam penanganan jamur kering IDRUS KADIR DAN HARSOJO	349
Bidang Kebumihan dan Lingkungan	
Teknik nuklir untuk penelitian reservoir dan aliran dua fasa pada lapangan panasbumi lahendong, sulawesi utara DJIJONO, ABIDIN, ALIP, RASI P.	363
Aplikasi dan pengembangan teknologi isotop dan radiasi dalam pengelolaan sumberdaya air di banten DJIONO, ABIDIN, PASTON, SATRIO, BUNGKUS P, RASI P	377

Formulasi konsentrat pupuk organik hayati berbasiskompos radiasi NANA MULYANA, DADANG SUDRAJAT, ENDRAWANTO WIDAYAT,	401
Pengembangan metode pengujian toxin paralytic shellfish poisoning sebagai saxitoxin dengan teknik nuklir WINARTI ANDAYANI , AGUSTIN SUMARTONO DAN BOKY JEANNE TUASIKAL.....	413
Instrumental analisis pengaktifan neutron (inaa) sedimen pesisir pltu suralaya; identifikasi polutan ALI ARMAN, YULIZON MENRY, SURIPTO, DARMAN DAN HARIYONO	421
Studi interkoneksi sungai bawah tanah di bribin – baron, di daerah karst gunung kidul WIBAGIYO, PASTON S. SATRIO.....	431
Studi kinetika karakterisasi biodegradasi bahan organik dari bagase tebu dan limbah nanas TRI RETNO D.L, DADANG SUDRAJAT, NANA MULYANA DAN ARIF ADHARI	441

PENGEMBANGAN METODE PENGUJIAN TOXIN PARALYTIC SHELLFISH POISONING SEBAGAI SAXITOXIN DENGAN TEKNIK NUKLIR

Winarti Andayani , Agustín Sumartono dan Boký Jeanne Tuasikal

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi- BATAN
Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Pasar Jumat, Jakarta Selatan
Telp.021-7690709; Fax: 021-7691607

ABSTRAK

PENGEMBANGAN METODE PENGUJIAN TOXIN PARALYTIC SHELLFISH POISONING SEBAGAI SAXITOXIN DENGAN TEKNIK NUKLIR. Telah dilakukan pengembangan metode pengujian saxitoxin dalam sampel kerang dengan teknik nuklir. Reaksi saxitoxin dalam sampel atau standar dengan reseptor dilakukan dalam 96-well, Saxitoxin bertanda (^3H) dengan aktifitas dan konsentrasi yang telah diketahui diinkubasikan dengan reseptor. Saxitoxin tidak bertanda dengan variasi konsentrasi yang diketahui ditambahkan ke dalam campuran tersebut. Campuran diinkubasi sehingga membentuk kompleks toxin-reseptor. Toxin bertanda akan bersaing dengan toxin yang tidak bertanda membentuk kompleks-reseptor. Jumlah dari kompleks toxin bertanda-reseptor di hitung secara kuantitatif menggunakan LSC. Reseptor yang digunakan berasal dari membrane otak tikus jantan berumur 6 minggu, Bagian cerebral cortex dari otak tikus diambil dan diekstraksi dengan buffer MOPS/Cholin Cl/PSMF pH 7.4. dalam keadaan dingin. Membran hasil ekstrak diukur proteinnya dengan metode BSA. Saxitoxin dalam sampel diukur kadarnya dengan metode reseptor binding assay,.. Hasilnya menunjukkan bahwa kadar protein dari ekstrak membran otak tikus sebesar 3,7 $\mu\text{g/ml}$. Telah diperoleh kurva STX terhadap kompleks reseptor- H3-STX.

Kata kunci : saxitoksin, PSP, kerang

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF TOXIN OF PARALYTIC SHELLFISH POISONING ASSAY AS SAXITOXIN USING NUCLEAR TECHNIQUES. Assay methods of saxitoxin in shellfish samples with nuclear techniques have been developed. Saxitoxin in the sample or standard were reacted with a receptor carried out in 96-well, Saxitoxin marked with (^3H) with the activity and concentrations of known incubated with the receptor. Unlabelled of Saxitoxin with a known concentration added to the mixture. The mixture was incubated to form a toxin-receptor complex. Marked toxin will compete with the toxin that are not marked-receptor complex formed. The number of labeled toxin-receptor complex in a quantitative count using the LSC. The Receptor were extracted from brain membrane-old male rats 6 weeks, Part cerebral cortex of rat brain were taken and extracted with buffer MOPS / cholin Cl / PSMF pH 7.4. in cold conditions. Membrane proteins in the extracts was measured using BSA. Saxitoxin levels in the samples was measured by receptor binding assay method. The results showed that the protein content of rat brain membrane extracts of 3.7 tg / ml . STX curves have been obtained on the complex-STX-H3 receptor.

Keywords : saxitoxin, PSP, mussels

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan luas lautan hampir 2/3 luas daratan. Kondisi ini merupakan sumber potensi bagi masyarakat Indonesia dari hasil laut yang sangat berlimpah. Hal ini didukung oleh letak Indonesia di daerah khatulistiwa yang merupakan daerah umumnya yang sangat sesuai untuk biota laut. Keamanan pangan hasil laut harus mendapat perhatian khusus

karena hasil laut merupakan sumber protein bagi masyarakat. Hasil laut juga merupakan salah satu komoditi ekspor, antara lain kerang, rumput laut, cumi-cumi, ikan tuna, cakalang, tongkol layang, teripang sirip hiu dan jenis ikan lain [1]. Indonesia telah mengekspor hasil laut ke berbagai negara seperti Cina, Uni Eropa, Jepang, Amerika Serikat, Taiwan, Singapura dan lain lain [1-4]. Pasar Uni Eropa merupakan pasar ekspor ketiga terbesar bagi Indonesia. Volume ekspor Indonesia ke Uni Eropa tahun 2006 mencapai 80.104,5 ton atau 8,65% dari total volume ekspor yang mencapai 426.477,59 ton. Nilai ekspor ke Uni Eropa 249,95 juta dollar AS atau 14,02 % dari total nilai ekspor perikanan Indonesia sebesar 2,1 miliar dollar AS, produk yang diekspor antara lain udang, tuna dan cumi. Indonesia mengandalkan pemasukan devisa dari hasil laut, namun Indonesia sulit memenuhi persyaratan ekspor. Syarat yang ditetapkan mengharuskan Indonesia memenuhi standar keamanan pangan sesuai regulasi yang diterapkan oleh negara importir. Keamanan pangan hasil laut yang perlu diperhatikan salah satunya toksin dari algae.

Salah satu persyaratan mutu untuk ekspor ikan dan kekerangan terutama ke negara uni Eropa ialah produk tersebut harus bebas PSP (*Paralytic Shellfish Poisoning*), sehingga program pengawasan mutu untuk PSP di Indonesia menjadi penting. Berbagai wilayah perairan di Indonesia sering terjadi *blooming phytoplankton* dari jenis *dinoflagellata*. Beberapa peneliti telah melakukan pemantauan secara periodik distribusi phytoplankton jenis HAB di perairan Indonesia seperti pulau Panggang (Kepulauan Seribu) Teluk Jakarta (tahun 2008), selat Makasar (tahun 2004) [5,6]. Hasilnya menunjukkan bahwa di daerah ini telah sering terjadi *blooming* dinoflagelata. *Phytoplankton* dari jenis *dinoflagellata* mampu menghasilkan toxin PSP, yang berpotensi menyebabkan keracunan hingga kematian pada manusia yang mengkonsumsi makanan laut yang telah tercemar toxin PSP. Kekerangan yang bersifat sebagai *feeding filter*, dapat berperan sebagai indikator untuk mengetahui apakah biota laut telah tercemar oleh toxin PSP. Oleh karena itu harus dilakukan pemantauan secara periodik kandungan toxin PSP di dalam kekerangan [7-9]. Apabila di dalam kekerangan mengandung PSP, maka hasil ini sebagai peringatan dini bahwa biota laut telah tercemar oleh toxin PSP dan harus diinformasikan kepada peternak kerang, pengeksportir ikan, dan para nelayan. Pemantauan kadar toxin dalam kekerangan, juga perlu dilakukan dalam rangka menunjang program pemerintah pada *safety seafood*.

BAHAN DAN METODE

Bahan.

Bahan makanan laut yang diuji dalam penelitian ini adalah Kerang darah, kerang bulu dan kerang hijau. Sampel diperoleh dari pasar pelelangan ikan di Muara Baru Jakarta (30 Juni 2009 dan 20 Agustus 2009) dan karangsong, Indramayu, Cirebon (4 Agustus 2009 dan 12 Oktober 2009). Tikus jantan berumur 6 minggu (Sprague- Dawley). Bahan kimia yang digunakan antara

lain ^3H -Saxitoxin (0,1 mCi/ml, $\geq 90\%$ radiochemical purity) International Isotopes Clearinghouse, Leawood, KS 66206 USA), Saxitoxin di HCl (FDA reference standard: sherwood Hall, MO, pH 7.4, choline chlorida dan Phenyl methyl sulfonyl fluorida (sigma), standar, Metil mercuri klorida, aseton, toluen, HCl, Bovine serum albumin (BSA),

Peralatan

Peralatan yang digunakan antara lain peralatan gelas, timbangan, sentrifuge, micropipettor (1-1000 μl), 8 channel pipettor (5-200 μl), 96-well microtiter filter plate, multiscreen vacuum manifold, pompa vakum, vortex, GC-14 B (Shimadzu), Liquid scintillation counter (Backman).

Metode

Pengujian toksin PSP (saxitoxin) dalam sampel kerang

1. **Ekstraksi membran dari otak tikus.** Sebanyak 12 ekor tikus diambil jaringan otaknya. Masing-masing otak dibuang bagian *medulla* dan *cerebellum* dan bagian *cerebral cortex* diambil direndam dalam buffer MOPS/ Cholin Cl/ PMSF pH 7,4 dalam keadaan dingin (es). Jaringan otak dihaluskan dengan homogenizer, dipindahkan ke tabung dan ditambah sekitar 12.5 ml buffer dingin. Kocok kuat. Homogenat dipindah ke tabung dan disentrifuge pada 20.000 x g pada 4°C selama 15 menit.. Endapan dilarutkan dengan buffer MOPS/ Cholin Cl pH 7,4 dan disimpan dalam tabung cryotube pada -80°C. Membran yang diperoleh ditentukan kadar proteinnya dengan metode BSA.
2. **Penentuan kadar protein dengan metode BSA.** BSA standar dengan berbagai seri konsentrasi disiapkan dalam tabung dengan cara mengencerkan BSA dari konsentrasi 1 mg/ml dalam pelarut buffer MOPS/ Cholin Cl pH 7,4 sebagai berikut,

BSA (μg)	Volume 1mg/ml BSA (μl)	Buffer ((μl))
0	0	100
10	10	90
20	20	80
30	30	70
50	50	50
75	75	25
100	100	0

Sebanyak 100 μl sampel membrane, dimasukkan dalam tabung. Masing-masing tabung yang berisi standar BSA dan sampel ditambahkan 1,0 ml pereaksi Lowry kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Setelah itu ditambahkan 100 μl pereaksi Folin dan diinkubasi lagi pada

suhu ruang selama 30 menit. Larutan diukur dengan spektrofotometer pada 595 nm untuk mengetahui kadar proteinnya.

3. Ekstraksi sampel untuk uji saxitoxin. Sampel kerang dihaluskan, ditimbang 5 g, ditambah 5 ml HCl 0,1 N, lalu di vortex. pH sampel ditepatkan pada pH 3-4. Larutan dipanaskan diatas pemangas air mendidih selama 5 menit, Larutan diangkat dan didinginkan dan pH ditepatkan pada pH 3-4. Filtrat diambil sekitar 5-7 ml, disentrifuge pada 3000 x g selama 10 menit. Filtrat diambil dan disimpan pada suhu -20°C sebelum diuji kadar saxitoxinnya.

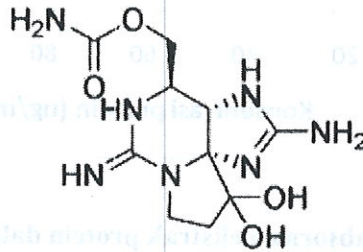
4. Pengujian saxitoxin dalam sampel dengan metode receptor binding assay. 96-well microtiter filter plate ditempatkan diatas multiscreen vacuum manifold. Ke dalam well yang kosong ditambah 200 µl buffer MOPS/cholin chloride untuk menguji bahwa proses filtasi dapat terjadi dengan baik. Vakum dihidupkan sehingga setiap well kering dalam waktu 2-3 detik. Ke dalam well ditambah 35 µl standar STX, QC atau sampel (dengan konsentrasi sesuai pada plate pada Gambar 1. Setelah itu semua well ditambah 35 µl [³H] STX 15 nM dan 140 µl membran hasil ekstrak dai otak tikus. Well ditutup dan diinkubasi pada 4 °C selama 1 jam. Plate difiltrasi, sehingga sampel yang tidak berikatan dengan membran akan dibuang. Plate diletakkan di multiscreen punch system, Setiap well dimasukkan dalam vial dan diisi 4 ml scintillation coctail (Insta gel plus), selanjutnya dicacah dengan alat LSC. Hasil cacahan dibuat kurva menggunakan program Prism v.4, Graph Pad Software.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	QC	QC	QC	U3 1:50	U3 1:50	U3 1:50	U6 1:10	U6 1:10	U6 1:10
B	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷	U1 1:10	U1 1:10	U1 1:10	U3 1:200	U3 1:200	U3 1:200	U6 1:50	U6 1:50	U6 1:50
C	3 x 10 ⁻⁸	3 x 10 ⁻⁸	3 x 10 ⁻⁸	U1 1:50	U1 1:50	U1 1:50	U4 1:10	U4 1:10	U4 1:10	U6 1:200	U6 1:200	U6 1:200
D	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸	U1 1:200	U1 1:200	U1 1:200	U4 1:50	U4 1:50	U4 1:50	U7 1:10	U7 1:10	U7 1:10
E	3 x 10 ⁻⁹	3 x 10 ⁻⁹	3 x 10 ⁻⁹	U2 1:10	U2 1:10	U2 1:10	U4 1:200	U4 1:200	U4 1:200	U7 1:50	U7 1:50	U7 1:50
F	10 ⁻⁹	10 ⁻⁹	10 ⁻⁹	U2 1:50	U2 1:50	U2 1:50	U5 1:10	U5 1:10	U5 1:10	U7 1:200	U7 1:200	U7 1:200
G	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹⁰	U2 1:200	U2 1:200	U2 1:200	U5 1:50	U5 1:50	U5 1:50			
H	REF	REF	REF	U3 1:10	U3 1:10	U3 1:10	U5 1:200	U5 1:200	U5 1:200			

Gambar 1. Plate yang berisi 96 well

HASIL DAN PEMBAHASAN

Saxitoxin mempunyai struktur molekul seperti pada Gambar 2. Senyawa ini mempunyai nama kimia (3a*S*-(3a- α ,4- α ,10a*R**))2,6-diamino-4-(((aminocarbonyl) oxy) methyl)-3a,4,8,9-tetrahydro-1*H*,10*H*-pyrrolo(1,2-*c*) purine-10,10-diol dengan rumus molekul $C_{10}H_{17}N_7O_4$ dan mempunyai berat molekul $299.29 \text{ g mol}^{-1}$.



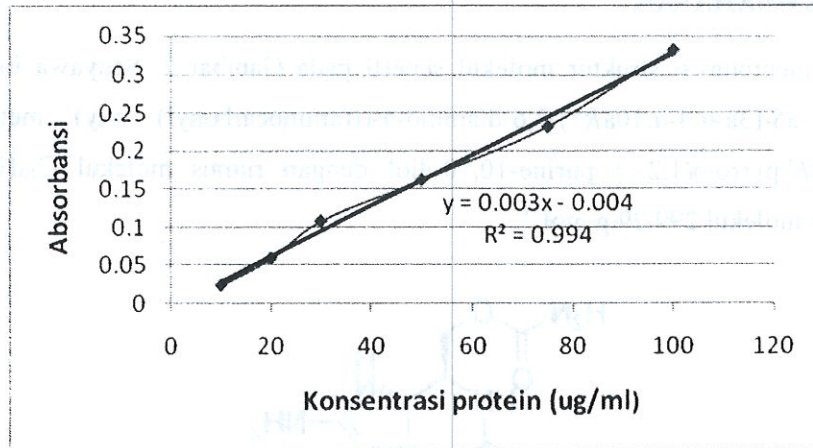
Gambar 2. Struktur molekul saxitoxin

Saxitoxin adalah *neurotoxin* yang dapat bertindak sebagai *bloker* yang bersifat selektif terhadap sodium channel. Untuk toksin sodium channel, sumber reseptor yang cocok yang dapat berikatan dengan sangat kuat dengan saxitoxin adalah membran yang berasal dari otak tikus. Oleh karena itu perlu dilakukan ekstraksi membran dari otak tikus, dan konsentrasi protein dari membran harus diukur untuk mendapatkan reaksi yang optimal.

1. Kadar protein dalam membrane hasil ekstrak. Kadar protein dalam membrane diukur konsentrasinya dengan menggunakan metoda BSA. Pengukuran protein sangat penting dilakukan karena pada pengujian saxitoxin dengan metode *Receptor Binding Assay* (RBA), konsentrasi protein dalam membrane harus 1 mg/ml. Dengan mengetahui konsentrasi protein dalam membrane, bisa ditentukan factor pengencerannya. Hasil pengukuran BSA standar dengan spektrofotometri, diperoleh kurva kalibrasi pada Gambar 3.

Gambar 3. Kurva kalibrasi protein BSA standar

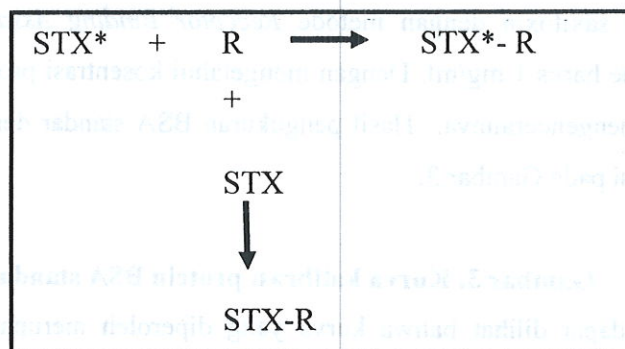
Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa kurva yang diperoleh merupakan persamaan linier, dimana $Y = 0.003 X - 0.004$ dengan nilai regresi 0,994. Dengan persamaan ini maka konsentrasi protein dalam membran hasil ekstraksi dapat dihitung (Tabel 1), dimana kadar protein dalam membran 3699,89 $\mu\text{g/ml}$. Oleh karena itu pada uji saxitoxin dengan metode RBA, maka protein harus diencerkan 3,68 kali.



Tabel 1. Nilai absorbansi ekstrak protein dalam membran

Absorbansi (595 nm)	Konsentrasi Protein (ug/ml)	faktor pengenceran	Konsentrasi Protein (ug/ml)/koreksi	Konsentrasi Protein (ug/ml)/rata-rata
0.171	53.18	64	3,403.64	3,688.89
0.408	125.00	32	4,000.00	
0.751	228.94	16	3,663.03	

Pengujian toxin dalam sampel berdasarkan pada interaksi saxitoxin (STX) yang bertindak sebagai ligan dengan reseptor sebagai molekul target. Reseptor assay STX merupakan kompetitif binding assay dimana [³H] STX sebagai radioligan bersaing dengan standar STX non label atau sampel sebagai ligan membentuk kompleks reseptor-toxin (Gambar 4).



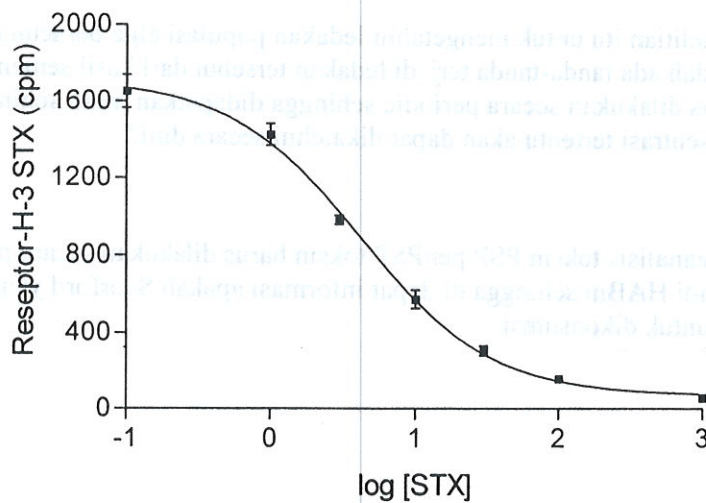
Gambar 4. Komplek Reseptor – Toksin

Pada suhu 4°C, [³H] STX yang tidak terikat oleh reseptor akan terpisah melalui penyaringan dan [³H] STX yang terikat oleh reseptor dihitung secara kuantitatif menggunakan Liquid Scintillation Counter (LSC). Hasil dari pencacahan standar dengan variasi konsentrasi 0 – 1000 nM STX, dapat dilihat pada Tabel 2. Pada Tabel 2 terlihat bahwa dengan penambahan konsentrasi STX unlabel, jumlah kompleks radiolabel yang terbentuk menurun. Pada tiga kali pengulangan standar, nilai RSD dari hasil analisis < 30 %. Reaksi kompetisi antara STX unlabel

dan label teradap reseptor pada data Tabel 2 dapat dibuat kurva yang ditampilkan dalam Gambar 4. kemudian dapat digunakan untuk menghitung secara kuantitatif jumlah toksin yang ada dalam sampel kerang.

Tabel 2. Data nilai cacahan reseptor - [³H] STX (cpm) pada variasi konsentrasi STX

Konsentrasi STX- Standar (nM)	Binding Reseptor- [³ H]STX (cpm)			Rata-rata	SD	RSD
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III			
1000	50	65	59	58.000	7.550	13.017
100	125	184	161	156.667	29.738	18.982
30	281	282	358	307.000	44.170	14.388
10	653	488	583	574.667	82.815	14.411
3	940	1018	991	983.000	39.611	4.030
1	1518	1441	1324	1427.667	97.685	6.842
0.1	1493	1792	1671	1652.000	150.403	9.104
0	1643	1942	1728			



Gambar 4. Kurva log STX terhadap kompleks Reseptor – [³H]-STX

KESIMPULAN

Ekstraksi membran otak tikus, penentuan protein dari ekstrak membran tikus, ekstrak sampel kerang dan pengujian saxitoxin dalam sampel dengan metode reseptor binding assay telah dilakukan dengan baik. Kadar protein dari ekstrak membran tikus sebesar 3,688.89 µg/ml. Telah didapat kurva STX terhadap kompleks Reseptor – [³H]-STX.

DAFTAR PUSTAKA:

1. Receptor Binding Assay technicue for Harmfull Algal Bloom Toxins Quantification, UNDP/EAEA/ subproject Application of Nuclear Techniques to Address Specific harmful Algal Bloom Concerns, Regional Resources Unit, Philippine Nuclear Research institute, PNRI, Quezon city, Philippine, 2000
2. FUKUYO YASUO (2001), geographical expansion of harmful algal blooms and its possible cause, Bulletin of plankton Society of Japan, vol 48 No. 1. p. 51-54
3. Regional Training Course on Strategies and Methodogies for Applied Marine Radioactivity Studies (31 October – 11 Novemnber 1994).

DISKUSI

DJIJONO

Sasarn akhir penelitian itu untuk mengetahui ledakan populasi alga beracun dilokasi yang ditentukan. Apakah sudah ada tanda-tanda terjadi ledakan tersebut dari hasil sementara yang didapat ? Apakah harus dilakukan secara periodic sehingga didapatkan trend sehingga pada sewaktu saat pada konsentrasi tertentu akan dapat dikatehui secara dini?

WINARTI A.

Sasaran akhir meanalisis toksin PSP penPSP toksin harus dilakukan secara period dilokasi perairan yang asin terjadi HABm sehingga di dapat informasi apakah Scorford yang sering terjadi HAB aman atau tidak untuk dikonsumsi